

DEUTSCHES  PATENTAMT

AUSLEGESCHRIFT 1 013 837

F 15844 IVa/30h

ANMELDETAG: 4. OKTOBER 1954

BEKANNTMACHUNG
DER ANMELDUNG
UND AUSGABE DER
AUSLEGESCHRIFT:

14. AUGUST 1957

1

Die Erfindung betrifft ein neues Verfahren und neue Mittel zur Durchführung bakteriologischer Arbeiten, insbesondere zum Nachweis bestimmter Bakterienarten oder -gruppen in flüssigen oder auf festen Stoffen, bei dem man Proben der auf Anwesenheit der Bakterien zu untersuchenden Stoffe auf sterile, spezifische Nährbodensubstanzen und gegebenenfalls Teststoffe enthaltende Nährböden überträgt oder mit ihnen in innige Berührung bringt, um alsdann die unter geeigneten Bedingungen durch biologische, den Bakterien eigentümliche Vorgänge hervorgerufenen Änderungen zu beobachten oder zu messen.

Bakteriologische Arbeiten dieser Art werden bisher meist in der Weise durchgeführt, daß man das zu untersuchende Gut, z. B. eine Flüssigkeit, mit sterilen Mitteln als Probe aus einem Behälter entnimmt und in einem steril verschließbaren Gefäß, z. B. einem Reagenzglas oder einer Petrischale, mit dem Nährboden vermischt, auf diesem ausstreicht oder auf ihn auflegt. Zum Nachweis von Bakterien auf Körperoberflächen gießt man einen Nährboden in ein besonderes Nährbodengefäß, mit dem man den Nährboden auf die zu untersuchende Fläche drückt, um ihn anschließend steril zu verschließen.

Als Nährböden für die Bakterienkulturen werden im allgemeinen gelierende Stoffe, wie z. B. Agar-Agar, gelatinöse Kieselsäure oder Gelatine selbst verwendet, in die als Nährmedien für die Bakterien geeignete Nährstoffe und gegebenenfalls weitere, z. B. als Nachweisindikatoren dienende Zusatzstoffe eingeführt werden. Ein auf diese Weise gewonnener zähflüssiger, spezifisch vorbereiteter Nährboden wird in den oben erwähnten sterilen Behälter eingegossen, er stellt eine geschlossene, mehr oder weniger weiche Masse dar, in der die Bakterien die zu ihrer Entwicklung erforderlichen Bedingungen antreffen. Die gelatinösen Stoffe ermöglichen die Diffusion der Nährmedien und der Stoffwechselprodukte der Bakterien.

Diese allgemein üblichen Arbeitsweisen bedingen, z. B. bei der Untersuchung von Flüssigkeiten, die Verwendung steriler Pipetten, die nach jedesmaligem Gebrauch zu reinigen und neu zu sterilisieren sind. Weiterhin sind Bebrütungs- oder Lagerungsbehälter aus festem Werkstoff, wie z. B. Glas oder Metall, erforderlich, die nach jedesmaligem, abgeschlossenem Untersuchungsverfahren zu reinigen und für den nachfolgenden Gebrauch wieder zu sterilisieren sind.

Der Nachteil dieser bisher angewendeten Verfahren liegt vor allem in dem großen Geräte-, Material- und Arbeitsaufwand, der eine Anwendung dieser Verfahren praktisch nur in einem entsprechend eingerichteten Laboratorium gestattet.

Für ganz spezielle Untersuchungen — nämlich die Untersuchung von Wasser — sind bereits besondere Vorrichtungen bekannt, bei denen mikroporöse Bakterienfilter aus Cellulosederivaten und Nährbodenträger aus

Verfahren und Mittel zur Durchführung bakteriologischer Arbeiten

Anmelder:

Fritz J. Förg, München 2, Theresienstr. 48

Fritz J. Förg, München,
ist als Erfinder genannt worden

2

Löschpapier benutzt werden. Die aus Löschpapier bestehenden Nährbodenträger bestehen aus kreisrunden Papierscheiben, die mit Nährlösungen imprägniert sind.

Bei einer Wasseruntersuchung wird zunächst das mikroporöse Filter in eine Filtervorrichtung eingesetzt und eine Probe des zu untersuchenden Wassers durch das Filter hindurchgesaugt. Dabei werden die in dem Wasser enthaltenen Bakterien auf der Oberfläche des Filters zurückgehalten. Anschließend wird das Filter aus der Filtervorrichtung herausgenommen und auf die in einem schachtelartigen Gefäß nach Art einer Petrischale liegende, mit Nährlösung getränkte Löschpapierscheibe aufgelegt, damit die Nährlösung aus der Löschpapierscheibe durch die Poren des Filters hindurch bis zu den Bakterien diffundieren und dabei den Bakterien die notwendigen Nährstoffe zuführen kann.

Für die Durchführung einer solchen Untersuchung sind außer dem als Werkzeug zur Probenentnahme dienenden Filter noch eine Filtervorrichtung mit besonderer Einrichtung zum Durchsaugen des Wassers, ein Nährbodenträger in Form des runden Löschpapierblattes und eine dicht verschließbare Schale als Bebrütungsbehälter erforderlich.

Ganz abgesehen davon, daß die mikroporösen Filter verhältnismäßig zerbrechliche Gebilde sind und deswegen sehr vorsichtig gehandhabt werden müssen, bedingt die Verwendung besonderer Filtervorrichtungen — die wiederholt benutzt werden — jeweils eine sorgfältige Reinigung und Sterilisation dieser Vorrichtungen. Außerdem sind auch die Schalen, in denen die Bebrütung der Bakterienkulturen erfolgt, nach jeder Verwendung einwandfrei zu reinigen und zu sterilisieren.

Der wesentliche Inhalt der vorliegenden Erfindung ist darin zu sehen, daß man zwecks Vermeidung besonderer, sorgfältig zu unterhaltender Hilfsmittel zum Übertragen der auf das Vorhandensein von Bakterien zu untersuchenden Stoffe auf einen Nährboden einen Träger für sterile

Nährbodensubstanzen derart ausbildet, daß er selbst unmittelbar als Mittel oder Werkzeug zur Entnahme der zu prüfenden Substanz benutzbar ist. Zu diesem Zweck verwendet man erfindungsgemäß als Träger für diesterilen Nährbodensubstanzen und gegebenenfalls Teststoffe ein aus sterilisierbarem und saugfähigem, die Entwicklung von Bakterien nicht nachteilig beeinflussendem Material bestehendes, mechanisch festes, frei zu handhabendes flächenhaftes Gebilde in der Form eines Blattes oder Streifens, das man unmittelbar nach Entnahme aus einer sterilen Verpackung mit dem zu untersuchenden Objekt in innige Berührung bringt und alsdann in eine vorzugsweise aus bruchfestem Material, z. B. aus elastischer Folie, hergestellte sterile Hülle einführt und in dieser Hülle unter das Wachstum der Bakterien fördernden Bedingungen lagert oder bebrütet, bis das Vorhandensein bestimmter Bakterienarten oder -gruppen durch an sich bekannte spezifische Reaktionen erkennbar wird.

Das flächenhafte Gebilde oder Blatt bzw. der Streifen kann aus saugfähigem Papier, z. B. Filter- oder Löschpapier, oder aus einem saugfähigen Textilgewebe bzw. aus einem Kunststoff poröser Struktur, z. B. einem Cellulosederivat, bestehen. Wesentlich für die Verwendung des Blattes oder Streifens in dem neuen Verfahren ist die Bedingung, daß die innere Festigkeit des flächenhaften Gebildes — insbesondere in feuchtem Zustand — seine freie Handhabung gestattet, ohne daß das Blatt oder der Streifen dabei zerreißt oder anderweitig beschädigt wird.

Die Verwendung von saug- und/oder quellfähigem Papier für die Herstellung des frei zu handhabenden Nährbodens hat vor allem den Vorteil, daß die zur Herstellung des Papiers verwendeten Materialien, in der Hauptsache Cellulose, bei sorgfältiger Reinigung der Ausgangsstoffe keinen nachteiligen Einfluß auf die Entwicklung der Bakterien ausüben können, daß man aus Papiermasse leicht saug- und quellfähige Blätter oder Streifen herstellen kann und daß die Blätter oder Streifen eine verhältnismäßig hohe mechanische Festigkeit selbst bei geringer Stärke des Blattes oder Streifens aufweisen.

Ein dünnes Blatt oder ein dünner Streifen hat den Vorzug, daß sich Bakterienkolonien, die sich auf oder in dem Blatt entwickeln und durch ihre spezifischen Reaktionen zu erkennen geben, auch zahlenmäßig recht genau ermittelt werden können, insbesondere dann, wenn man gebleichtes, mehr oder weniger durchscheinendes Papier verwendet.

Das Blatt, das die sterilen Nährbodensubstanzen enthält, soll vor seiner Benutzung mit an sich bekannten spezifischen Teststoffen für Bakterien präpariert werden.

Eine »Nährbodensubstanz« oder ein »Nährboden« im Sinne der obigen und der folgenden Ausführungen ist meist bereits durch spezifische Zusätze einer durch das Arbeiten mit diesem Nährboden nachzuweisenden Bakteriengruppe besonders angepaßt, indem darin das Wachstum dieser Bakteriengruppe fördernde Stoffe enthalten sind. Zu diesen Zusätzen gehören auch sauer oder basisch reagierende Substanzen, die es gestatten, in dem Nährboden einen bestimmten p_H -Wert herzustellen, der für die Entwicklung bestimmter Bakterienarten besonders förderlich ist. Derartige spezifische vorbereitete Nährböden werden an sich bereits in weitem Umfang bei bakteriologischen Arbeiten aller Art verwendet; ihre Zusammensetzung und die Art ihrer Herstellung liegt außerhalb des Rahmens der vorliegenden Erfindung.

Unter dem oben verwendeten Ausdruck »Teststoffe« sind alle diejenigen Stoffe zu verstehen, deren Vorhandensein in dem Nährboden entweder die Entwicklung bestimmter Bakterienarten verhindert oder die infolge der Stoffwechselvorgänge der Bakterien chemische Veränderungen erleiden, die in irgendeiner Form beobachtet oder

gemessen werden können. Zu solchen Teststoffen sind insbesondere Farbstoffe zu rechnen, die bei Veränderung des p_H -Wertes oder infolge anderer chemischer Beeinflussung des Farbstoffes einen deutlich bemerkbaren Farbumschlag zeigen. Unter Teststoffen dieser Art können auch Testorganismen verstanden werden, deren Entwicklung durch bestimmte Bakterien gefördert oder unterbunden wird. Auch diese Teststoffe sind in ihrer Verwendung als Beigaben zu einem Nährboden üblicher Art bekannt.

Unter gewissen Bedingungen, insbesondere bei größeren Blättern, empfiehlt es sich, das Blatt, vorzugsweise an seinen Kanten, durch Einlagen aus Bakterien gegenüber indifferenten Stoffen hoher Festigkeit zu versteifen.

Die Durchführung des Verfahrens unter Benutzung der neuen Mittel ist außerordentlich einfach. Zum Nachweis von Bakterien auf Körperoberflächen drückt man ein mit einem vorzugsweise feucht gehaltenen Nährboden versehenes Blatt an die Oberfläche des zu untersuchenden Körpers an oder legt es auf diesen Körper auf, wobei die Schmiegsamkeit des Blattes auch das Andrücken dieses Blattes an gekrümmte oder gebrochene Körperoberflächen ermöglicht. Anschließend zieht man das Blatt mit den an dem Blatt haftenden Bakterien von der Körperoberfläche ab und bringt es in eine sterile Hülle ein. Nach feuchtigkeitsdichtem Verschuß der sterilen Hülle kann die Bebrütung des auf und in dem Blatt befindlichen Nährbodens unter bekannten Bedingungen erfolgen.

Ein solches mit feuchtem Nährboden versehenes Blatt kann auch zum Nachweis von Bakterien in Gasen verwendet werden, indem man es z. B. einem Strom des auf Bakteriengehalt zu untersuchenden Gases für einige Zeit aussetzt und dann steril in die Hülle einschließt.

Für den Nachweis von Bakterien in Flüssigkeiten verwendet man ein zuvor mit Nährmedien und Teststoffen präpariertes Blatt, das im Anschluß an das Aufbringen der Nährmedien und gegebenenfalls der Teststoffe, vorzugsweise im Vakuum, steril getrocknet und anschließend steril verpackt worden ist. Das Blatt wird aus seiner sterilen Verpackung entnommen, in die Flüssigkeit eingetaucht und nach seinem Vollsaugen mit Flüssigkeit anschließend in eine sterile Hülle eingebracht, die Hülle verschlossen und die Bebrütung der Kultur durchgeführt.

Wenn man bei Flüssigkeiten quantitative Untersuchungen durchführen will, so soll gemäß der Erfindung ein saug- und/oder quellfähiges Blatt mit bestimmter, genau bekannter Saugfähigkeit verwendet werden, das beim Eintauchen in eine bestimmte Flüssigkeit jeweils eine gleichbleibende Flüssigkeitsmenge je Flächeneinheit des Blattes aufnimmt. Dadurch ist es möglich, in ein Blatt bestimmter Flächengröße z. B. 0,1 ml einer zu untersuchenden Flüssigkeit einsaugen zu lassen und aus der Zahl der bei der Bebrütung des Blattes sichtbar werdenden Bakterienkolonien unmittelbar die Anzahl der Bakterien einer bestimmten Gruppe festzustellen, die in 0,1 ml der Flüssigkeit enthalten war.

Bei bakteriologischen Arbeiten dieser Art ist es außerordentlich wichtig, daß einwandfrei steril gearbeitet wird, um das Auftreten unerwünschter Bakterien in der Nährbodensubstanz zu verhindern.

Gemäß der Erfindung wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß man dem vorzugsweise in Form eines Streifens ausgeführten Blatt eine leicht von dem Blatt oder dem Streifen abtrennbare Handhabe gibt, an der man das Blatt unmittelbar anfassen kann, um es aus seiner sterilen Verpackung zu entnehmen, und die weiterhin dazu dient, das Blatt während des Eintauchens in eine Flüssigkeit oder zum Aufdrücken auf die Oberfläche eines Körpers festzuhalten. Diese durch das Anfassen unsteril gewordene Handhabe soll beim Einführen des Blattes in die sterile, das Blatt während der Entwicklung der Bakterienkul-

turen schützende Hülle abgetrennt werden, ehe man das Blatt in der sterilen Hülle verschließt.

Blätter oder Streifen, die mit feuchtem Nährboden versehen werden und feucht in ihrer sterilen Hülle versandt werden, sollen nur mit solchen Nährmedien und Teststoffen oder Indikatoren versehen werden, die durch gelegentlich vorkommende hohe Lagerungstemperaturen oder gegenseitige chemische Beeinflussung nicht zersetzt werden können.

Bei Blättern oder Streifen, die zur Untersuchung von Flüssigkeiten bestimmt sind, muß man die Nährmedien und Teststoffe oder Indikatoren meist als Lösungen mit dem sterilisierten Blatt oder Streifen in Verbindung bringen, damit der Streifen die Lösungen aufsaugt; anschließend wird der Streifen getrocknet, damit er die für seine Verwendung notwendige Saugfähigkeit wieder erhält. Dieses Trocknen des Blattes oder Streifens läßt sich mit der für eine fabrikmäßige Herstellung dieser Blätter oder Streifen erwünschten Geschwindigkeit meist nur im Vakuum durchführen, da eine große Zahl der als Indikatoren benutzten Farbstoffe temperaturempfindlich sind und bei hohen Trockentemperaturen sich leicht zersetzen würden. Bei einer Vakuumtrocknung kann man durch Steigerung des Vakuums und Absaugen der sich bildenden Dämpfe die Trocknung schnell bei etwa Zimmertemperatur oder nur wenig höheren Temperaturen durchführen, bei der eine Zersetzung der Indikatoren nicht zu befürchten ist.

Zur näheren Erläuterung der Erfindung ist in der Zeichnung eine Ausführungsform des Blattes oder Streifens und seiner Verpackung bzw. seiner Hülle dargestellt; außerdem sind wesentliche Teile des Verfahrens an Hand von Figuren erläutert. Die Darstellungen der Zeichnung stellen lediglich Beispiele für die Durchführung des Verfahrens und die bei dem Verfahren verwendeten Mittel dar; sie sollen den Umfang der Erfindung keinesfalls auf die dargestellten Beispiele beschränken.

Die Fig. 1 bis 9 zeigen Darstellungen eines als Streifen ausgebildeten, mit Nährbodensubstanzen und Indikatoren versehenen Trägers, wie er zur Feststellung von Colibakterien in einer Flüssigkeit, z. B. Milch, verwendet wird, und zwar

Fig. 1 den Streifen in seiner Verpackung, so wie er von dem Herstellerwerk bezogen werden kann,

Fig. 2 einen Querschnitt durch den verpackten Streifen gemäß Fig. 1 nach der Linie II-II der Fig. 1 geschnitten, in vergrößertem Maßstab,

Fig. 3 die Entnahme des Streifens aus seiner Verpackung,

Fig. 4 den aus der Verpackung entnommenen Streifen,

Fig. 5 sein Eintauchen in ein mit Flüssigkeit gefülltes Gefäß, wobei sich der Streifen mit Flüssigkeit und mit den in der Flüssigkeit befindlichen Bakterien belädt,

Fig. 6 und 7 die Einführung des mit Flüssigkeit vollgesogenen Streifens in die sterile Hülle, in der der Streifen anschließend zur Durchführung der Bebrütung steril verschlossen wird,

Fig. 8 den in die sterile Hülle eingebrachten, Flüssigkeit enthaltenden Streifen nach dem Verschluß der Hülle,

Fig. 9 den in seiner Hülle befindlichen Streifen nach der Bebrütung und der Entwicklung mehrerer Kolonien von Colibakterien.

Die Fig. 1 und 2 zeigen den als Träger für die Nährbodensubstanzen und spezifische Teststoffe (Indikatoren) für Colibakterien dienenden Streifen 1, der zunächst im Inneren einer aus durchsichtiger Kunststoffolie hergestellten taschenartigen Hülle 2 fest verschlossen ist. Der Streifen 1 besteht aus saug- und quellfähigem Papier; er ist durch eine Perforation 3 in einen unteren, langen Streifenteil 4 und einen oberen, kurzen, als Handhabe dienenden Ab-

schnitt 5 unterteilt. Der Papierstreifen 1 hat die Saugfähigkeit eines Filterpapiers oder Löschblattes, er ist mit spezifischen Nährmedien für Colibakterien und mit einem Indikator präpariert, der infolge Einwirkung der Stoffwechselvorgänge der Bakterien seine Farbe verändert.

Für die Untersuchung von Milch präpariert man den Streifen in folgender Weise:

Der Streifen wird zunächst in eine wäßrige Lösung der Nährmedien eingetaucht, wobei man zweckmäßigerweise eine große Zahl von zunächst noch zusammenhängenden Streifen durch ein Bad der Nährmedienlösung hindurchzieht. Dieser Nährmedienlösung kann auch schon der Indikator zugesetzt sein.

Als Beispiele solcher Imprägnierlösungen für Blätter oder Streifen, mit denen Colibakterien in Milch nachgewiesen werden sollen, seien zwei wahlweise zu verwendende Rezepte genannt:

- | | | | |
|----|--------------------------------|-----------------|---|
| a) | 10 g | Pepton | { als Nährstoffe, die Eiweiß (Stickstoff) und Kohlehydrate enthalten, |
| | 10 g | Lactose | |
| | 20 g | Ochsengalle | { zur spezifischen Wachstumsförderung coliformer Bakterien, |
| | 0,0013 g | Brillantgrün | |
| | zusammen gelöst in 1 l Wasser. | | |
| b) | 10 g | Pepton, | { |
| | 10 g | Lactose, | |
| | 10 g | Ochsengalle und | |
| | 0,04 g | Gentianaviolett | |
| | auf 1 l Wasser. | | |

Beiden Lösungen wird ein spezifischer Farbstoffindikator zugegeben.

Es lassen sich selbstverständlich auch andere geeignete Stoffe verwenden, z. B. die Bestandteile des in der Schweiz und den USA. für bekannte Standarduntersuchungen in der Milchwirtschaft verwendeten Formiat-Ricinoleat-Mediums nach Sterk und England.

Die Einstellung eines geeigneten p_H -Wertes erfolgt durch an sich bekannte puffernde Zusätze, z. B. Eiweißhydrolysate oder Aminosäurengemische.

Die Konzentration der Lösung und das Mischungsverhältnis der Stoffe kann in weiten Grenzen geändert werden.

Die mit Nährlösung vollgesaugten Streifen werden sodann — vorzugsweise im Vakuum — bei Temperaturen von 30 bis 60° getrocknet, anschließend auseinander geschnitten und in der taschenartigen Kunststoffhülle 2 steril verpackt. Die Kunststoffhülle 2 ist aus einem dünnwandigen, durchsichtigen Kunststoffschlauch hergestellt, sie ist an ihrem Ende durch eine bodenförmige Schweißnaht 6 verschlossen. Die Hülle kann aus beliebigem Folienmaterial bestehen, das die Entwicklung der Bakterien nicht nachteilig beeinflusst. Ein besonders geeigneter Werkstoff ist das bereits für die Herstellung von Schutzhüllen für mikrobiologische Präparate bekannte Polyäthyl. Nach dem Einführen des Streifens 1 wird auch das obere Ende des die Hülle 2 bildenden Kunststoffschlauches durch eine Schweißnaht 7 abgeschlossen.

Die bereits beim Bilden der Schweißnähte plattgedrückte Hülle 2 schließt also — wie aus Fig. 2 klar zu erkennen ist — den Streifen 1 eng ein. Da der Streifen selbst vollkommen trocken und durch die feuchtigkeitsdichte Kunststoffhülle gegen den Zutritt von Feuchtigkeit geschützt ist, kann er in seiner steril geschlossenen Verpackung lange aufgehoben werden, ohne daß eine Zersetzung der Nährmedien oder eine chemische Beeinflussung der Indikatoren erfolgt. Die geschlossene Packung nimmt wegen ihrer flachen Ausführung nur einen sehr geringen Raum ein, so daß selbst größere Mengen solcher verpack-

ter Teststreifen sich leicht unterbringen lassen, zumal keine Rücksicht auf Feuchtigkeit in der Umgebung zu nehmen ist.

Bei Ingebrauchnahme des Streifens wird die Hülle 2 durch einen unmittelbar unterhalb der Schweißnaht 7 geführten Schnitt 8 aufgeschnitten und die Hülle 2 durch Druck auf ihre Seitenkanten 9 aufgedrückt (vgl. die Pfeile 10 in Fig. 3, die die Richtung des Druckes darstellen). Dieses Aufdrücken der Hülle 2 wird durch die bogenförmige Ausbildung der den Boden der Hülle verschließenden Schweißnaht 6 erleichtert. Durch Schräghalten der Hülle 2 läßt man nun den Streifen 1 so weit aus der Öffnung 11 der Hülle 2 herausgleiten, bis sein oberer Abschnitt 5 mit den Fingern erfaßt werden kann. Es ist darauf zu achten, daß lediglich der obere, abtrennbare Abschnitt 5 berührt wird, damit der eigentliche, für den Test benötigte längere Streifenteil 4 nicht infiziert wird. Der Streifen wird sodann in ein Gefäß 12, das die zu untersuchende Milch 13 enthält, bis etwa zu der Perforation 3 des Streifens eingetaucht, wobei sich der untere Streifenteil 4, der vollständig in die Milch 13 eintaucht, entsprechend seinem Saugvermögen mit Milch vollsaugt. Das Vollsaugen des Streifens erfolgt innerhalb außerordentlich kurzer Zeit; es genügt also, den Streifen für höchstens 1 Sekunde in die Milch einzutauchen. Der aus der Milch herausgezogene Streifen 1 wird kurz abgeschüttelt und in die wiederum durch Druck auf die Seitenkanten weit geöffnete Hülle 2 zurückgesteckt (vgl. Fig. 6). Dabei führt man den Streifen so tief in die Hülle 2 ein, daß die Perforation 3 ungefähr 1 cm unterhalb der Kante 14 der Öffnung 11 liegt. Anschließend drückt man auf die Seitenflächen der Hülle 2, etwa an der mit 15 (vgl. Fig. 7) bezeichneten Stelle, um den Streifenteil 4 in der Hülle festzuhalten und trennt durch Zug den als Handhabe dienenden, durch die Berührung mit der Hand infizierten Abschnitt 5 von dem restlichen Streifenteil 4 ab. Nun befindet sich der Testteil 4 des Streifens 1 wieder innerhalb der sterilen Hülle 2, deren Öffnung 11 durch Umfalten, durch eine Rändelnaht oder durch Verschweißen der thermoplastischen, die Hülle bildenden Folie längs einer Schweißnaht 16 verschlossen werden kann.

Die nunmehr verschlossene, den Streifenteil 4 enthaltende Hülle 2 kommt in einen Brutraum, der auf einer Temperatur von etwa 37° gehalten wird. Nach Verlauf von etwa 10 Stunden haben sich auf dem Teststreifenteil 4 eine Reihe von Colibakterienkolonien 17 entwickelt, deren Lage auf dem Teststreifen 4 durch klare Verfärbung des als Indikator dienenden Farbstoffes erkennbar ist (vgl. Fig. 9). Diese jeweils das Vorhandensein einer Kolonie von Colibakterien anzeigenden Farbpunkte lassen sich bequem mit bloßem Auge auszählen.

Da der Teststreifenteil 4 bei seinem Eintauchen in die Milch sehr genau 1 ml Milch ansaugt, läßt sich aus der Zahl der Farbpunkte genau die Zahl der in 1 ml Milch vorhanden gewesenen Bakterien ermitteln. Ist mit dieser Ermittlung die eigentliche Aufgabe bereits erfüllt, so kann der Streifen zusammen mit seiner Hülle fortgeworfen werden.

Legt man jedoch Wert auf eine aktenmäßige Festlegung des Prüfungsergebnisses, so kann man den mit Farbpunkten versehenen Streifen anschließend z. B. durch Wärmeeinwirkung sterilisieren, dabei trocknen und als Aktenbeleg unmittelbar aufheben.

Da der Streifen nur verhältnismäßig dünn ausgeführt ist und aus gebleichtem, durchscheinendem Material besteht, werden auch die im Innern des Streifens sitzenden Bakterienkolonien durch entsprechende Verfärbung deutlich sichtbar. Es ist also die Gewähr dafür gegeben, daß bei der Auszählung — die von beiden Seiten des Streifens her erfolgt — tatsächlich sämtliche in dem

Streifen zur Entwicklung gekommenen Bakterienkolonien einwandfrei erfaßt werden.

Da die Zeit, die zur Entnahme der Probe und für das Verschließen des in die Milch eingetauchten Streifens in seiner Hülle praktisch kaum 1 Minute beträgt, so läßt sich ein quantitativer Nachweis von Colibakterien in Milch also in etwa 10 Stunden ohne weiteres durchführen. Das einzige Hilfsmittel, das neben dem Streifen und seiner Verpackung benötigt wird, ist ein Brutraum, in dem eine Temperatur von etwa 37° möglichst konstant gehalten werden kann. Da die Streifen in ihrer Hülle vollkommen steril gegen Infektionen geschützt sind, kann mit jeder beliebigen Wärmequelle gearbeitet werden, die sich behelfsmäßig leicht herstellen läßt.

Es mag noch erwähnt werden, daß Probestreifen, die nicht sofort nach der Probeentnahme bebrütet werden, sich auch ohne Fälschung des Ergebnisses mehrere Stunden im Kühlschrank bei Temperaturen von 1 bis 5° C aufheben lassen, so daß man gegebenenfalls in einer Molkerei z. B. die Bebrütung der im Laufe eines Tages anfallenden Versuchsstreifengemeinsam durchführen kann.

Teststreifen, die zum Nachweis von Bakterien auf Körperoberflächen bestimmt sind, können ebenfalls in einer aus durchsichtiger, luft- und flüssigkeitsdichter Folie bestehenden Hülle 2 versandt und bis zu ihrer Verwendung aufbewahrt werden. Im Gegensatz zu dem Fig. 1 bis 9 dargestellten Anwendungsbeispiel müssen diese Streifen aber feucht gehalten sein.

Ein solcher aus stark saugfähigem Papier bestehender Streifen wird — wenn er für den Nachweis von Hefe- und Schimmelkeimen bestimmt ist — z. B. mit einer Lösung von 30 g Malzextrakt und 20 g Dextrose in 1 l Wasser imprägniert.

Für den Nachweis von Diphtherie Bakterien ist beispielsweise die folgende Lösung anwendbar:

10 g Fleischextrakt,
5 g Kochsalz,
10 g Pepton,
100 g Rinderserum,
2 g Kaliumtellurit
in 1 l Wasser.

Für den Nachweis anderer Bakterien kommen andere spezifische Nährbodenzusammensetzungen und Teststoffe in Frage, die aus einschlägigen Veröffentlichungen über spezifische Nährbodenzusammensetzungen der bisher verwendeten Nährböden entnommen und sinngemäß bei der Herstellung der Blätter oder Streifen gemäß der vorliegenden Erfindung angewendet werden können.

Der feuchte Streifen wird auf die gleiche Art aus einer Folienhülle 2 entnommen wie bei dem Beispiel 1. Anschließend drückt man die eine Fläche des feuchten Streifens auf die zu untersuchende Oberfläche, z. B. eine Tischplatte, auf. Die Oberseite des Streifens darf dabei nicht mit den Händen berührt werden; man muß ein steriles Hilfsmittel verwenden, um den Streifen fest an die Tischplatte anzupressen. Die Schmiegsamkeit des Streifens gestattet es, auch um Kanten herum den Streifen fest anzupressen.

Es dürfte klar sein, daß in gleicher oder ähnlicher Weise auch abgerundete oder unregelmäßig geformte Körper, z. B. die Oberflächen von Lebensmitteln wie Fleisch oder Käse, durch den schmiegsamen Streifen »abgeklatscht« werden können.

Anschließend an das Anpressen des Streifens an die zu untersuchende Oberfläche, bei dem die feuchte Oberfläche des Streifens von der zu untersuchenden Oberfläche Bakterien (oder Pilzkeime) aufgenommen hat, wird der Streifen nunmehr in der durch die Fig. 6 und 7 darge-

stellten Weise in seine Hülle 2 zurückgesteckt, wobei nach Einführen des Streifens (vgl. Fig. 7) die mit den Fingern berührte Handhabe 5 von dem Streifen abgetrennt wird. Das anschließende Bebrüten des Streifens kann in der gleichen Weise erfolgen wie bei dem zuerst beschriebenen Beispiel.

Handelt es sich bei den nachzuweisenden Bakterien oder Pilzkeimen um aerobe Keime, so muß für die Entwicklung dieser Keime während des Bebrütungsvorganges des Streifens eine gewisse Menge Luft oder Sauerstoff zur Verfügung stehen. Diese Forderung kann mit dem Erfindungsgegenstand leicht in der Weise erfüllt werden, daß man die Hülle 2 nach dem Einführen des Streifens 4 nicht in der durch die Fig. 8 gekennzeichneten Weise in Form einer flachen, wenig Luft enthaltenden Tasche verschließt (indem man die Verschußnaht parallel zu der den Boden der Hülle 2 abschließenden Schweißnaht 6 ausführt), sondern die Verschußnaht 16 in einer senkrecht zu der Schweißnaht 6 verlaufenden Ebene vorsieht. Die Hülle 2 bildet dann einen Hohlkörper, der eine verhältnismäßig große Menge Luft enthält, so daß der in dieser Luft enthaltene Sauerstoff für die Entwicklung selbst einer größeren Zahl von Kolonien vollkommen ausreicht.

Die Bebrütung der mit Bakterien versehenen Streifen erfolgt grundsätzlich in der gleichen Weise wie bei dem vorangegangenen Beispiel; je nach Art der nachzuweisenden Bakterien zeigen sich nach einer bestimmten Bebrütungszeit auf dem Streifen entweder durch Reaktionen der Stoffwechselprodukte der Bakterien bedingte Farbänderungen, oder es bilden sich — z. B. bei Schimmelpilzen — deutlich sichtbare Kolonien, die durch ihre Färbung deutlich auf dem Streifen hervortreten.

Für die Züchtung anaerober Keime kann man die gleiche Hülle 2 verwenden, wenn man die Luft vor dem Verschließen der Hülle durch Zusammenpressen praktisch vollständig herausdrückt. Die gleiche Wirkung läßt sich auch durch eine Hülle aus schrumpfender Folie erzielen, wie sie neuerdings als Verpackungsfolie, insbesondere für Lebensmittel bekanntgeworden ist, die sich durch thermische oder chemische Beeinflussung, z. B. durch Eintauchen in heißes Wasser, stark zusammenzieht.

Für den Nachweis von Bakterien, die durch biologische Vorgänge Gase bilden, kann man derart vorgehen, daß man die nach dem Einbringen des Blattes oder Streifens gasdicht verschlossene, vorzugsweise verschweißte Hülle nach Bildung einer größeren Gasmenge ansticht, die in der Hülle enthaltenen Gase absaugt oder durch elastische Verformung der Hülle herausdrückt und analysiert.

Das Verfahren gemäß der Erfindung läßt sich auch in vorteilhafter Weise zu gesundheitlichen Prüfungen des Wassers von Flüssen und Seen, insbesondere für die quantitative Feststellung seines Gehaltes an pathogenen Keimen, verwenden.

Für eine solche Untersuchung muß man der Sicherheit wegen — da Wasser meist nur wenig solcher Keime enthält — eine große Flüssigkeitsmenge untersuchen. Hierzu wird ein größeres Blatt verwendet, das man, um es in einer kleinen Verpackung liefern und nach der Probenentnahme auch bebrüten zu können, nicht glatt ausgestreckt, sondern vorzugsweise mehrfach gefaltet benutzt. Die Blattform hat an sich den Vorteil, daß man die sich auf dem dünnen Blatt bildenden Bakterienkolonien genau auszählen kann; das Zusammenfalten des Blattes gestattet aber, mit kleinem Rauminhalt für die Hülle auszukommen. In seiner Faltlage wird das Blatt durch indifferente Versteifungsteile zusammengehalten.

Das zur Wasseruntersuchung dienende Blatt wird zweckmäßigerweise vor seinem Zusammenfalten mit spezifischen Nährbodensubstanzen und Indikatoren imprägniert. Als Beispiel einer für den Nachweis von Typhus-

keimen geeigneten Imprägnierlösung mag die folgende Lösung gelten:

375 ml	Magermilch, tryptisch verdaut,
25 g	Dextrose,
25 g	sek. Natriumphosphat,
25 g	Wismutammoniumcitrat,
12,5 g	Natriumsulfit,
3,25 g	Ferroammoniumsulfat,
0,125 g	Brillantgrün
	und ein Farbindikator,
	zusammen gelöst in 1 l Wasser.

Im Anschluß an das Imprägnieren wird das Blatt zunächst — vorzugsweise im Vakuum — getrocknet. Anschließend wird eine elastische, sterile Folie auf das Blatt gelegt, die sich beim Zusammenfalten des Blattes zwischen die einzelnen Blattschichten einfügt und diese Blattschichten versteift, außerdem aber auch voneinander trennt, so daß sich Bakterienkolonien nicht auf benachbarte, einander berührende Teile des Blattes ausbreiten und das Vorhandensein einer größeren Zahl von Kolonien vortäuschen können. Die Verpackung des zusammengefalteten Blattes kann ebenfalls eine Hülle ähnlich der Hülle 2 (Fig. 1) sein.

Beim Gebrauch schneidet man in bekannter Weise die Hülle an ihrer oberen glatten Schweißnaht auf, läßt das Blatt so weit herausgleiten, daß man es an seiner Handhabe erfassen kann, und taucht den zusammengefalteten Teil des Blattes in das zu untersuchende Wasser. Das Blatt hat eine ganz bestimmte Größe und Saugfähigkeit, so daß es eine genau definierte Menge Wasser, z. B. 10 ml, aufnimmt. Im Anschluß an das Tauchen des Blattes läßt man das überschüssige Wasser abtropfen, führt das gerollte Blatt wieder in die Hülle ein und verschließt nach Abtrennen der Handhabe in der Perforationsnaht die Hülle durch Zusammendrücken oder Verschweißen der Öffnung. Daraufhin wird die Hülle mit dem Blatt in einen Brutschrank gebracht. Nach der Bebrütung lassen sich auf der ausgebreiteten Fläche des Blattes — gegebenenfalls unter Berücksichtigung beider Seiten des Blattes — die Bakterienkolonien einwandfrei auszählen, wodurch man unmittelbar die Zahl der in einer bestimmten Flüssigkeitsmenge, z. B. in 10 ml vorhandenen Bakterien erhält.

Dieses Verfahren arbeitet außerordentlich zuverlässig quantitativ, da bei entsprechender Ausbildung des als Träger für die Nährbodensubstanz dienenden Papiers, aus dem das Blatt hergestellt wird, ganz genau 10 ml Wasser in einem bestimmten Blatt aufgenommen werden. Vergleichsversuche nach den bisher üblichen, wesentlich umständlicheren Nachweismethoden haben die Zuverlässigkeit des neuen Verfahrens eindeutig bestätigt.

Obwohl die oben beschriebenen Beispiele für die Anwendung des Verfahrens und der zur Durchführung des Verfahrens verwendeten Mittel sich auf ganz bestimmte Anwendungsgebiete beschränken, dürfte es ohne weiteres einzusehen sein, daß das neue Verfahren und die neuen Mittel zur Durchführung dieses Verfahrens sich auch für sehr viele andere bakteriologische Arbeiten mit Vorteil verwenden lassen. Man kann das Blatt oder den Streifen mit Nähr- und/oder Testmedien für beliebige andere Bakterienarten versehen, indem man die jeweils aus der Literatur bekannten Nähr- und/oder Zusatzstoffe auf das Blatt oder den Streifen aufbringt.

Die Einfachheit und die schnelle Durchführbarkeit des neuen Verfahrens ergibt besondere Vorteile bei Untersuchungen, die an Ort und Stelle ohne Verwendung eines Laboratoriums durchgeführt werden sollen. So kann z. B. ein praktischer Arzt, der seine Patienten besucht, eine ganze Reihe unterschiedlicher, einzeln für sich verpackter

Teststreifen bei sich führen, von denen z. B. einige für den Nachweis von Diphtherie- oder Typhusbakterien, andere für den Nachweis von Typhusbakterien oder andere Bakterienarten bestimmt sind.

Für einen Diphtherie- oder Typhusnachweis können die bereits vorher genannten Nährbodenzusammensetzungen Verwendung finden; ein für Hämolyseprüfungen geeigneter Nährboden wird z. B. durch Imprägnieren eines saugfähigen Papierstreifens mit der folgenden Lösung gewonnen:

10 g	Proteose,
5 g	Fleischextrakt,
5 g	Kochsalz,
1 g	Aesculin,
0,33 g	Thalliumsulfat,
0,0013 g	Kristallviolett,
60 g	Rinderserum (defibr.)
	in 1 l Wasser.

Zur Sicherung seiner Diagnose kann der Arzt auf den einen und/oder den anderen der Streifen Ausscheidungen des Kranken, z. B. Sputum oder Urin, aufnehmen, die Streifen in ihren Hüllen verschließen und die Bebrütung der Streifen gegebenenfalls in einer inneren Westentasche bei etwa Körpertemperatur durchführen. Bei einem Diphtherienachweis z. B. zeigt eine Betrachtung des bebrüteten Streifens bereits nach wenigen Stunden mit aller Deutlichkeit, ob der Patient tatsächlich Bakterien ausscheidet, die als Erreger der Diphtherie anzusehen sind. Die bisher übliche Einsendung von Proben an ein größeres Laboratorium ist nicht mehr erforderlich; eine Bekämpfung der Krankheit kann nach Bestätigung der Diagnose durch das neue Verfahren in kürzester Zeit einsetzen.

Aber auch ambulante Untersuchungen von Lebensmitteln oder von Wasser werden durch das neue Verfahren so wesentlich vereinfacht und beschleunigt, daß sie von ungeübten Kräften und demgemäß in viel größerem Umfang als bisher durchgeführt werden können.

Mit entsprechend präparierten Streifen, denen man z. B. Antibiotika unterschiedlicher Art oder gestaffelter Konzentration beigegeben hat, kann man die Wirkung solcher Antibiotika — z. B. Penicillin oder Aureomycin — auf die Bakterien feststellen. Zu Vergleichszwecken lassen sich auch noch in bekannter Weise auf Antibiotika reagierende Keime, z. B. *Thermobakterium bulgaricum*, in die Abschnitte des Streifens einimpfen.

Schließlich kann man zwecks Aufhebung der Wirkung eines Antibiotikums einen Gegenstoff (bei Penicillin z. B. Penicillinase) in bestimmten Mengen der Imprägnierlösung zugeben.

Mit derartig präparierten Streifen lassen sich ferner Reihenuntersuchungen durchführen, die einen recht genauen Aufschluß über das Verhalten bestimmter Bakterien gegenüber Antibiotica ergeben.

Da die entsprechend ausgebildeten Blätter oder Streifen fabrikmäßig unter sorgfältiger Kontrolle hergestellt werden können, entfällt der größere Teil der bisher bei der Durchführung derartiger Untersuchungen für die Herstellung entsprechender Nährböden aufgewandten Arbeit, so daß die Untersuchungen selbst unter geringem Zeit- und Arbeitsaufwand schnell durchgeführt werden können, was sich ganz allgemein, insbesondere aber für die klinische Behandlung zahlreicher Krankheitsfälle günstig auswirkt.

Die oben ausführlich beschriebenen Beispiele haben den Zweck, die umfassende Anwendbarkeit des neuen Verfahrens und der zur Durchführung des Verfahrens geschaffenen Mittel zu erläutern. Wie bereits aus der Beschreibung der Beispiele hervorgeht, ist die Erfindung

keinesfalls auf diese besonderen Beispiele beschränkt. Jeder Fachmann wird ohne weiteres erkennen, daß durch geeignete Kombination der an sich außerhalb des Rahmens der Erfindung liegenden Zusammensetzungen der Nährböden und Teststoffe mit gemäß der Erfindung ausgebildeten Nährbodenträgern, vorzugsweise in Form eines Blattes oder Streifens, viele andere, hier nicht im einzelnen erwähnte bakteriologische Arbeiten wesentlich vereinfacht werden können.

PATENTANSPRÜCHE:

1. Verfahren zur Durchführung bakteriologischer Arbeiten, insbesondere zum Nachweis bestimmter Bakterienarten oder -gruppen in flüssigen oder auf festen Stoffen, bei dem man Proben der auf Anwesenheit der Bakterien zu untersuchenden Stoffe auf sterile, spezifische Nährbodensubstanzen und gegebenenfalls Teststoffe enthaltende Nährböden überträgt oder mit ihnen in innige Berührung bringt, um alsdann die unter geeigneten Bedingungen durch biologische, den Bakterien eigentümliche Vorgänge hervorgerufenen Änderungen zu beobachten oder zu messen, dadurch gekennzeichnet, daß man als Träger für die Nährbodensubstanzen und gegebenenfalls die Teststoffe ein aus sterilisierbarem und saugfähigem, die Entwicklung von Bakterien nicht nachteilig beeinflussendem Material bestehendes, mechanisch festes, frei zu handhabendes flächenhaftes Gebilde in Form eines Blattes oder Streifens verwendet, das man unmittelbar nach Entnahme aus einer sterilen Verpackung mit dem zu untersuchenden Objekt in innige Berührung bringt und anschließend in eine vorzugsweise aus bruchfestem Stoff, z. B. aus elastischer Folie, hergestellte sterile Hülle einführt und in dieser Hülle unter das Wachstum der Bakterien fördernden Bedingungen lagert oder bebrütet, bis das Vorhandensein bestimmter Bakterienarten oder -gruppen durch an sich für diese Bakterien bekannte spezifische Reaktionen erkennbar wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß man ein flächenhaftes Gebilde in Form eines Blattes oder eines Streifens mit einer leicht abtrennbaren Handhabe verwendet, dessen Handhabe man nach Einführen des Blattes oder Streifens in die sterile Hülle abtrennt, ehe man das Blatt selbst in der Hülle verschließt.

3. Verfahren nach Anspruch 1, insbesondere zum Nachweis von Bakterien auf Körperoberflächen, dadurch gekennzeichnet, daß man ein mit feuchtem Nährboden versehenes Blatt an die Oberfläche des zu untersuchenden Körpers anlegt oder andrückt und das von der Körperoberfläche abgezogene feuchte Blatt in eine sterile Hülle einbringt und in ihr feuchtigkeitsdicht verschließt.

4. Verfahren nach Anspruch 1, insbesondere für den Nachweis von Bakterien in Flüssigkeiten, dadurch gekennzeichnet, daß man ein nach seiner Tränkung mit Nährmedien getrocknetes Blatt verwendet, dieses Blatt in die Flüssigkeit eintaucht, wobei es einen Teil der zu untersuchenden Flüssigkeit aufnimmt und es anschließend in die sterile Hülle einbringt, die daraufhin verschlossen wird.

5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Blatt mit bestimmter, genau bekannter Saugfähigkeit verwendet, das beim Eintauchen in eine bestimmte Flüssigkeit jeweils die gleiche Flüssigkeitsmenge je Flächeneinheit des Blattes aufnimmt.

6. Verfahren nach Anspruch 1, in seiner Anwendung auf den Nachweis aerober Bakterien, dadurch gekenn-

zeichnet, daß man die Hülle nach dem Einführen des Blattes oder Streifens in der Weise verschließt, daß sie nach dem Verschließen ein großes Luftvolumen enthält.

7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 4, in seiner Anwendung auf den Nachweis anaerober Bakterien, dadurch gekennzeichnet, daß man die Hülle nach dem Einführen des Blattes oder Streifens in der Weise verschließt, daß sie sich unter Verdrängung der Luft aus der Hülle eng an den Streifen anpreßt.

8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Hülle aus schrumpffähiger Folie verwendet und daß man durch die Schrumpfung der Hülle bis zum Anliegen ihrer Folienflächen an alle Flächen des Streifens die gewünschten anaeroben Wachstumsbedingungen schafft.

9. Verfahren nach Anspruch 1 zum Nachweis von Bakterien, die durch biologische Vorgänge Gase bilden, dadurch gekennzeichnet, daß man die nach dem Einbringen des Blattes oder Streifens gasdicht verschlossene, vorzugsweise verschweißte Hülle nach Bildung einer größeren Gasmenge ansticht, die in der Hülle enthaltenen Gase absaugt oder durch elastische Verformung der Hülle herausdrückt und analysiert.

10. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens gemäß Anspruch 1, gekennzeichnet durch ein steril in einer Hülle verpacktes flächenförmiges, mechanisch widerstandsfähiges, nach Entnahme aus seiner sterilen Verpackung frei zu handhabendes Gebilde in Form eines Blattes oder Streifens aus sterilisierbarem und saugfähigem, die Entwicklung von Bakterien nicht nachteilig beeinflussendem Material, das mit Nährbodensubstanzen und gegebenenfalls zum Nachweis der Bakterien bestimmten Teststoffen versehen ist und als Nährbodenträger sowie gleichzeitig als Werkzeug dient, um zwecks Übertragung der Bakterien auf den Nährboden den Nährboden mit den zu untersuchenden Stoffen in innige Berührung zu bringen.

11. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Hülle luft- und flüssigkeitsdicht

verschießbar und aus einer die Entwicklung von Bakterienkulturen nicht beeinflussenden Folie hergestellt ist.

12. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß das flächenförmige Gebilde unter Zwischenlage einer indifferenten Folie ein- oder mehrfach zusammengefaltet ist und in der Faltlage durch indifferente Versteifungsteile zusammengehalten wird.

13. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß das als Blatt oder Streifen ausgebildete flächenförmige Gebilde mit einer feucht gehaltenen Nährbodenlösung getränkt ist.

14. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß das flächenhafte Gebilde in Form eines Blattes oder Streifens die Nährbodensubstanzen und eventuellen Teststoffe in getrockneter Form enthält und ein über die gesamte Fläche des Blattes oder Streifens gleichbleibendes Saugvermögen aufweist, so daß gleich große Teile des Blattes oder Streifens beim Eintauchen in eine bestimmte Flüssigkeit jeweils gleiche Mengen der Flüssigkeit aufnehmen und festhalten.

15. Vorrichtung nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß das Blatt oder der Streifen einen oder mehrere abtrennbare Flächenabschnitte aufweist.

16. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß das flächenhafte Gebilde mit einer leicht von dem Gebilde trennbaren Handhabe versehen ist, die vorzugsweise aus einem Teil des flächenhaften Gebildes selbst besteht, der über eine Perforationsnaht mit dem größeren Restteil des Gebildes verbunden ist.

17. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Hülle aus schrumpffähigen Folien hergestellt ist.

In Betracht gezogene Druckschriften:

Zeitschrift für Hygiene (1953), Bd. 136, Heft 3, S. 229 bis 232;

USA.-Patentschrift Nr. 2 677 647.

Hierzu 1 Blatt Zeichnungen

